

# TSLPR/IL7R/BaF3

## CBP74136

# 操作说明书



4008-750-250

## 目录

1. 背景信息 .....	1
2. 产品介绍 .....	1
3. 细胞基本信息 .....	3
4. 主要仪器试剂耗材 .....	3
5. 细胞培养 .....	4
5.1 细胞复苏 .....	4
5.2 细胞传代 .....	4
5.3 细胞冻存 .....	4
6. 细胞实验流程 .....	4
6.1 Anti-proliferation Assay .....	4
7. 数据展示 .....	6
7.1 增殖抑制实验验证结果 .....	6
8. 相关产品 .....	6

## 1. 背景信息

胸腺基质淋巴细胞生成素 (TSLP) 是一种主要肺、皮肤和肠表面的上皮细胞表达分泌的细胞因子，与 IL-7 同源，1994 年被首次发现。TSLP 分为短亚型和长亚型，分别由 60 个氨基酸和 159 个氨基酸组成。TSLP 在体内的受体为 TSLPR，TSLP 先与 TSLPR 结合，随后招募 IL-7R $\alpha$  蛋白形成具有活性的 TSLP/TSLPR/IL-7R $\alpha$  复合物，而 TSLP 本身对 IL-7R $\alpha$  没有明显的亲和力。激活下游 JAK1 和 JAK2，从而导致 MAPK 信号通路，STAT5，STAT1，STAT3 和 NKkB 等转录因子激活，导致细胞增殖和炎症因子表达。人上皮细胞、基质细胞 和肥大细胞都能产生 TSLP。在急性和慢性特应性皮炎患者的皮肤损害处能高水平表达 TSLP，正常皮肤及诱导接触性皮炎和皮肤系统性红斑狼疮则不能表达，特应性皮炎的角质细胞也能高度表达 TSLP。

## 2. 产品介绍

科佰生物推出 TSLPR/IL7R/BaF3 药靶细胞，其通过慢病毒转染的方法引 TSLPR/IL7R 基因到 BaF3 细胞系中，稳定表达人 TSLPR/IL7R 基因。见图 1 和图 2 流式验证 TSLPR 和 IL7R 表达

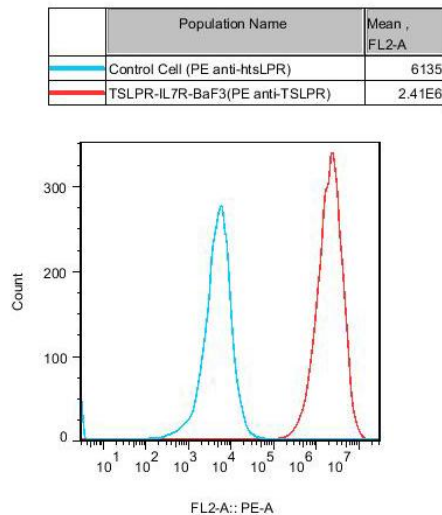
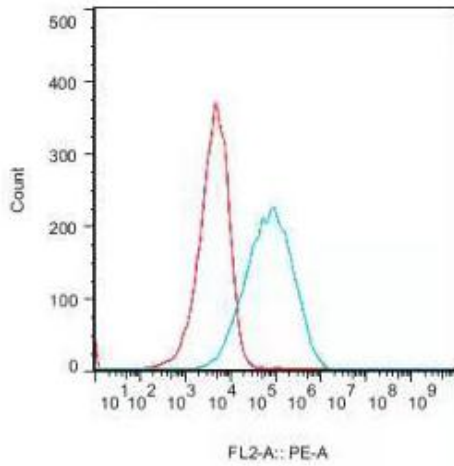


图 1: TSLPR/IL7R/BaF3 细胞表达人 TSLPR



	Population Name	Mean , FL2-A
	BaF3-hTSLPR-hIL7R+anti-hIL7R-PE	1.31E5
	BaF3+anti-hIL7R-PE	6993

图 2: TSLPR/IL7R/BaF3 细胞表达人 IL7R

Ba/F3（小鼠原 B 细胞）的生长和增殖需要 IL-3 的维持。引入各种表达激酶基因，这些基因能作为 Ba/F3 的驱动基因，让 Ba/F3 不再依赖 IL-3 而增殖，进而激酶基因成为 Ba/F3 增殖依赖的驱动基因，用于评估药物对激酶的靶向抑制作用。

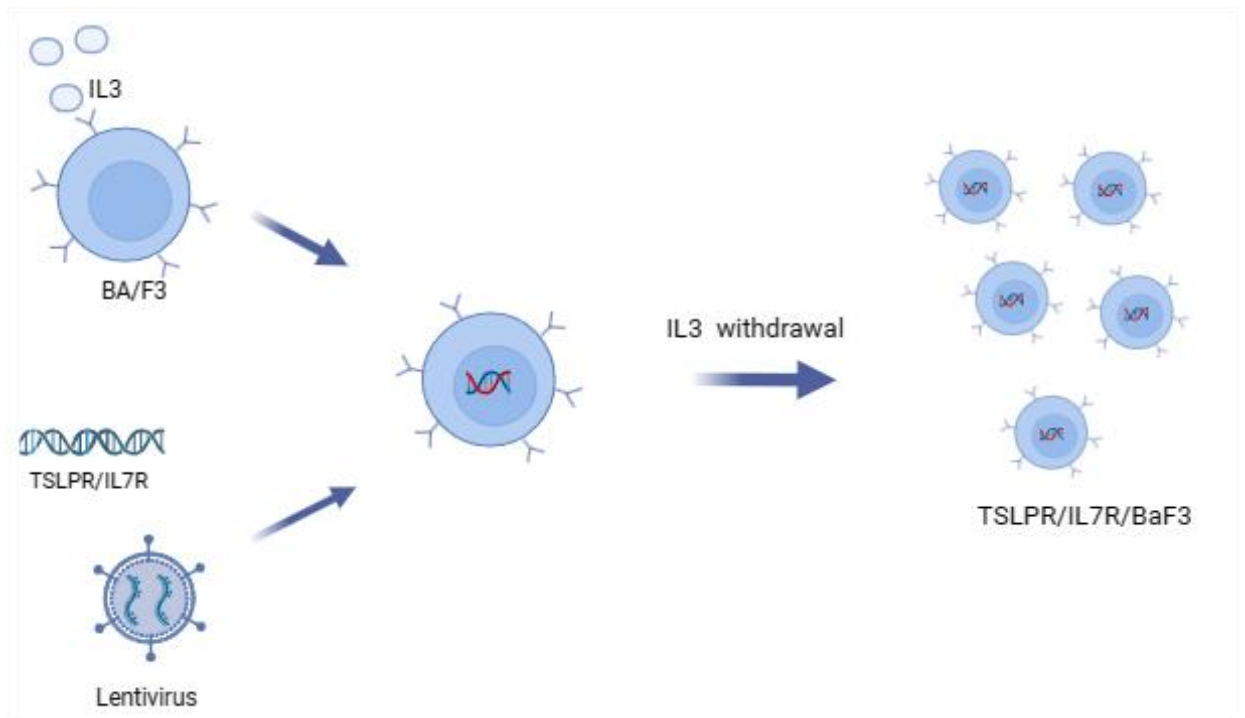


图 3: TSLPR/IL7R/BaF3 细胞构建流程

### 3. 细胞基本信息

母细胞: Ba/F3

表达基因: TSLPR/IL7R

传代培养基: RPMI-1640+10%FBS+2ng/ml TSLP(R&D 1398-TS)

细胞冻存液: 90% FBS+10% DMSO

细胞形态: 悬浮

支原体检测: 阴性

稳定性: 16 代 (室内测试结果, 不表示超过 16 代以上不稳定)

保存条件: 液氮保存

### 4. 主要仪器试剂耗材

名称	品牌	货号
细胞冻存液	Cobioer	CBP50089
96 Well Assay Plate (White Plate, Clear Bottom with Lid Tissue Culture Treated Polystyrene 1/Pack)	Costar	3610
细胞活力检测试剂盒	Cobioer	CBPH0004
CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay	Promega	Cat.No.: G7573
Recombinant Human TSLP Protein	R&D	1398-TS-010
TSLPR/IL7R/BAF3	cobioer	CBP73315
Synergy H1 多功能酶标仪	Biotek	/

## 5. 细胞培养

### 5.1 细胞复苏

- 1) 该细胞对 TSLP 蛋白活性有特殊要求，须使用 R&D 公司货号 1398-TS 产品。
- 2) 在 37°C 水浴中快速融化细胞约 60 秒。一旦细胞解冻（可能比 60 秒稍快或稍慢），快速收到细胞后，请将培养瓶放入 37 度培养箱，放置 4 小时，使细胞回到正常温度。
- 3) 收到细胞后请将瓶内培养液用移液管吸到多个 15ml 离心管，1000 转离心 5 分钟，小心地用移液管吸出上清液到另两个 50ml 离心管（上清液 4 度保存用于后续培养，强烈建议您使用吸出培养基培养至少 2-3 代，并在更换新培养基前冻存几支细胞）。每管底部各留约 2ml 培养基，移液管轻轻吹打 3-5 次使细胞重悬，吸到新的 T25 培养瓶中培养。立即细胞计数，根据计数结果，加培养基调整细胞密度到  $3 \times 10^5 \text{ cell/ml}$ ，以后培养中传代换液请同样操作。

### 5.2 细胞传代

每 1-2 天取细胞悬液计数，当密度大于  $2 \times 10^6 \text{ cells/ml}$  时，请及时传代或补加新鲜完全培养基。保持细胞密度在  $3 \times 10^5 - 2 \times 10^6 \text{ cells/ml}$  之间。

### 5.3 细胞冻存

取  $8 \times 10^6$  细胞离心后弃上清。加 1ml 细胞冻存液(90% FBS+10%DMSO)，吹打均匀，加入细胞冻存管。立即放入细胞冻存盒（Nalgene 5100-0001），加异丙醇到刻度线，放 -80°C 冰箱。24 小时后将冻存管转到液氮中长期保存。

## 6. 细胞实验流程

### 6.1 Anti-proliferation Assay

此实验由药靶细胞 TSLPR/IL7R/BaF3 细胞, Cat. # CBP74136 开展，本实验使用 TSLP Ab 为测试样本，验证本模型的生物功能。

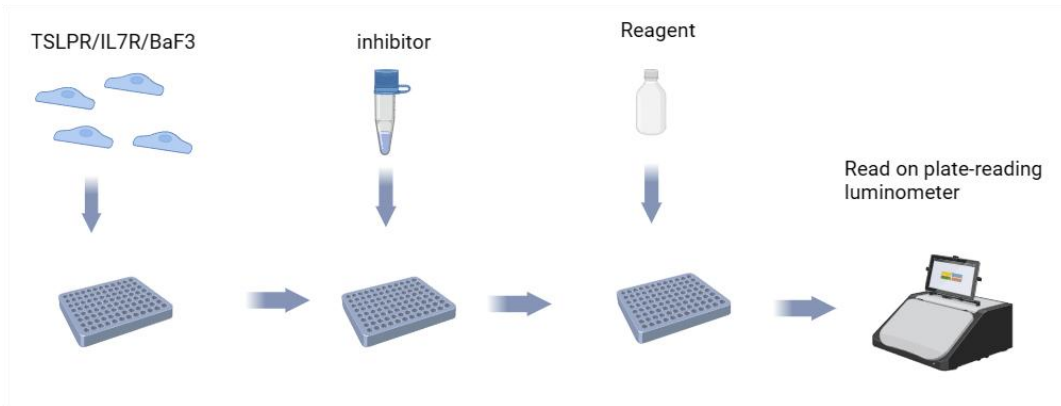


图 4: TSLPR/IL7R/BaF3 增殖抑制实验流程示意图

- 1) 取对数生长的细胞，离心弃培养上清，将离心下来的细胞用 DPBS 洗涤一次,离心弃 DPBS, 将细胞再次重悬于新鲜 RPMI1640+10%FBS+0.5ng/ml Recombinant Human TSLP Protein 培养基中，调整细胞密度为  $2.5 \times 10^4/\text{ml}$ 。
- 2) 将重悬的细胞接种到白壁透明底的 96 孔细胞培养板中，100ul/孔细胞悬液
- 3) 用 RPMI1640+10%FBS+0.5ng/ml Recombinant Human TSLP Protein 培养基梯度稀释  $10^*$  浓度样品，并设置 0 浓度对照孔。
- 4) 取 1 块 96 孔板，加入 100ul/孔 Cell Titer Glo 检测试剂放置 30 分钟，读取化学发光的 RLU 数值，作为 G0 值。
- 5) 将梯度稀释的  $10^*$  浓度样品，转入步骤 2 的 96 孔板中，每孔加入 11.1ul 溶液，继续在 37 度细胞培养箱培养 72 小时。
- 6) 72 小时后从 96 孔板从培养箱中取出，加入 100ul/孔 Cell Titer Glo 检测试剂放置 30 分钟，读取化学发光的 RLU 数值，作为 G3 值
- 7) 根据 G0 和 G3 值计算样品增殖抑制率，计算公式： $\%Proliferation = (\text{待测化合物孔 } G3 - G0 \text{ 平均值}) / (\text{DMSO 对照孔 } G3 \text{ 平均值} - G0 \text{ 平均值}) * 100$ ，度输入 Prism Graphpad 软件拟合细胞增殖曲线，并获得梯度曲线对应样品的 GI50 值。

## 7. 数据展示

### 7.1 增殖抑制实验验证结果

#### Inhibition of hTSLP-induced hTSLPR&IL7R Ba/F3 Cells Proliferation

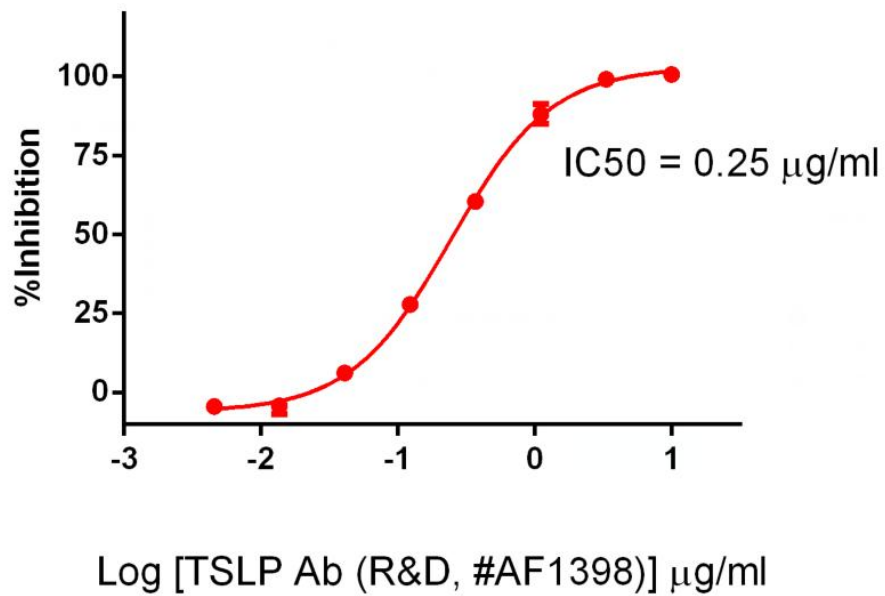


图 5: 使用 TSLP Ab 增殖抑制实验结果

## 8. 相关产品

名称	货号
hTSLP Effector Reporter Cell	CBP74171
TSLPR/IL7R/BaF3	CBP74136